

Recommended by Doctor of Pharmacy, Professor S. V. Kolisnyk

UDC 615.281.9:616-002.5:54.057:547.581.2

<https://doi.org/10.24959/nphj.17.2160>

D. O. Alferova, I. S. Gritsenko, A. O. Rebryk, N. P. Kobzar, O. O. Altukhov,
O. V. Shapovalova, O. S. Kaliuzhnaia, M. M. Suleiman

National University of Pharmacy

The synthesis of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid hydrazides as potential antituberculous drugs

Antitubercular drugs are used for a number of decades. In each country where research is conducted strains of mycobacteria that are resistant to one or more drugs have been registered, and it causes tuberculosis with multi-drug resistance (MDR-TB). These strains of *M. tuberculosis* at least are not sensitive to isoniazid and rifampicin – two most powerful first-line antitubercular drugs. MDR-TB can be treated and cured using the second choice drugs. However, these treatment options are limited and require extensive chemotherapy (the treatment duration is up to two years) with drugs which are of high cost and toxicity. In some cases, a more dangerous drug resistance may develop. Tuberculosis with extensive drug resistance (EDR-TB) is more severe form of MDR-TB caused by bacteria that do not respond to the most effective antitubercular drugs of the second choice with which there are often no any further treatment options for patients. Therefore, the search and development of drugs with the antitubercular activity are important today.

Aim. To synthesize and study dibromo-substituted derivatives of ortho-chlorobenzoic acids as potential substances with the antitubercular action.

Materials and methods. Hydrazides of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid were obtained by two methods – by hydrazinolysis of acid chlorides of the corresponding acids (method 1) and by interaction of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid with hydrazines in the presence of carbonyldiimidazole (method 2).

Results and discussion. It has been found that the synthesis of hydrazides by method 2 allows obtaining the target compounds with a high yield.

Conclusions. According to the literature data the compounds synthesized are promising for the pharmacological screening on the antitubercular activity.

Key words: hydrazides; ortho-chlorobenzoic acid; pharmacological screening; antitubercular activity

Д. О. Алферова, І. С. Гриценко, А. О. Ребрик, Н. П. Кобзар, О. О. Алтухов, О. В. Шаповалова,
О. С. Калужная, М. М. Сулейман

Синтез гідразидів 3,5-дибром-2-хлоробензойної кислоти як потенційних протитуберкульозних засобів

Протитуберкульозні лікарські засоби використовуються впродовж цілого ряду десятиліть. У кожній країні, де проводяться дослідження, зареєстровані штами мікобактерій, стійкі до одного або декількох препаратів, що зумовлює виникнення туберкульозу з множинною лікарською стійкістю (МЛС-ТБ). Ці штами *M. tuberculosis* щонайменше не чутливі до ізоніазиду та рифампіцину – двох найпотужніших протитуберкульозних препаратів першого ряду. МЛС-ТБ можна лікувати і виліковувати, використовуючи препарати другого ряду. Однак такі варіанти лікування обмежені і вимагають проведення екстенсивної хіміотерапії (лікування тривалістю до двох років) препаратами, які відрізняються високою вартістю і токсичністю. У деяких випадках може розвиватися більш небезпечна лікарська стійкість. Туберкульоз з широкою лікарською стійкістю (ШЛС-ТБ) є більш важкою формою МЛС-ТБ, що викликається бактеріями, які не реагують на найефективніші протитуберкульозні препарати другого ряду, при яких у пацієнтів нерідко не залишається ніяких подальших варіантів лікування. Тому пошук та створення лікарських засобів з протитуберкульозною активністю є актуальним.

Метою даної роботи є синтез і дослідження дібромозаміщених похідних орто-хлоробензойних кислот як потенційних субстанцій з протитуберкульозною дією.

Матеріали та методи. Гідразиди 3,5-дибром-2-хлоробензойної кислоти отримували двома способами – гідразинолізом хлорангідридів відповідних кислот (спосіб 1) та взаємодією 3,5-дибром-2-хлоробензойної кислоти з гідрaziном у присутності карбонілдіімідазолу (спосіб 2).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що синтез гідразидів способом 2 дозволяє отримати цільові сполуки з більшим виходом.

Висновки. Згідно з даними літератури синтезовані сполуки є перспективними речовинами для фармакологічних досліджень на протитуберкульозну активність.

Ключові слова: гідразиди; орто-хлоробензойна кислота; фармакологічний скринінг; протитуберкульозна активність

Д. А. Алферова, И. С. Гриценко, А. А. Ребрик, Н. П. Кобзарь, А. А. Алтухов, О. В. Шаповалова, О. С. Калюжная, М. М. Сулейман

Синтез гидразидов 3,5-дибром-2-хлорбензойной кислоты как потенциальных противотуберкулезных средств

Противотуберкулезные лекарственные средства используются в течение целого ряда десятилетий. В каждой стране, где проводятся исследования, зарегистрированы штаммы микобактерий, устойчивые к одному или нескольким препаратам, что приводит к возникновению туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ). Эти штаммы *M. tuberculosis* по меньшей мере не чувствительны к изониазиду и рифампицину – двум самым мощным противотуберкулезным препаратам первого ряда. МЛУ-ТБ можно лечить и излечивать, используя препараты второго ряда. Однако такие варианты лечения ограничены и требуют проведения экстенсивной химиотерапии (лечение продолжительностью до двух лет) препаратами, которые отличаются высокой стоимостью и токсичностью. В некоторых случаях может развиваться более опасная лекарственная устойчивость. Туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) является более тяжелой формой МЛУ-ТБ, вызываемой бактериями, которые не реагируют на самые эффективные противотуберкулезные препараты второго ряда, при которых у пациентов нередко не остается никаких дальнейших вариантов лечения. Поэтому поиск и создание лекарственных средств с противотуберкулезной активностью является актуальным.

Целью данной работы является синтез и исследование дибромзамещённых производных орто-хлорбензойных кислот как потенциальных субстанций с противотуберкулезным действием.

Материалы и методы. Гидразиды 3,5-дибром-2-хлорбензойной кислоты получали двумя способами – гидразинолизом хлорангидридов соответствующих кислот (способ 1) и взаимодействием 3,5-дибром-2-хлорбензойной кислоты с гидразином в присутствии карбонилдиимдазола (способ 2).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что синтез гидразидов по способу 2 позволяет получить целевые соединения с большим выходом.

Выводы. Согласно данным литературы синтезированные соединения являются перспективными веществами для фармакологических исследований на противотуберкулезную активность.

Ключевые слова: гидразиды; орто-хлорбензойная кислота; фармакологический скрининг; противотуберкулезная активность

In recent years in Ukraine as in many other countries there is a catastrophic situation with tuberculosis, which occupies the first place among the infectious diseases with the highest lethal consequences [1].

According to the data of the World Health Organization (WHO) [2] primary tuberculosis is identified annually more than in 10 million people, and nearly 3 million die. Currently, the appearance of the drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* is the main problem in the treatment of tuberculosis [3, 4].

Therefore, the urgent task of medicinal chemistry is the search and development of more effective antitubercular drugs.

Among derivatives of ortho-chlorobenzoic acids compounds exhibiting the highest antimicrobial activity were found earlier [4-6]; therefore, it was decided to check this group of compounds for sensitivity to mycobacteria.

The **aim** of the work is the synthesis of a new group of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid hydrazides as potential antitubercular drugs.

Materials and methods

All solvents and reagents were obtained from commercial sources. The $^1\text{H-NMR}$ -spectra were recorded on a "Varian Mercury VX-200" spectrophotometer at 200 MHz with $\text{DMSO-}d_6$ as a solvent, and TMS as an internal standard. Thin-layer chromatography (TLC) was performed on aluminum plates coated with silica gel (Merck, Kiesgel 60 F-254). The melting point was determined on the Kofler plate.

The IR-spectra were recorded on a "Specord M-80" spectrophotometer using potassium bromide tablets with

the concentration of 1 % and on a "Testcan FTIR 8000 series" IR-spectrophotometer with Fourier transformer.

The general method for the synthesis of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid hydrazides (3-10)

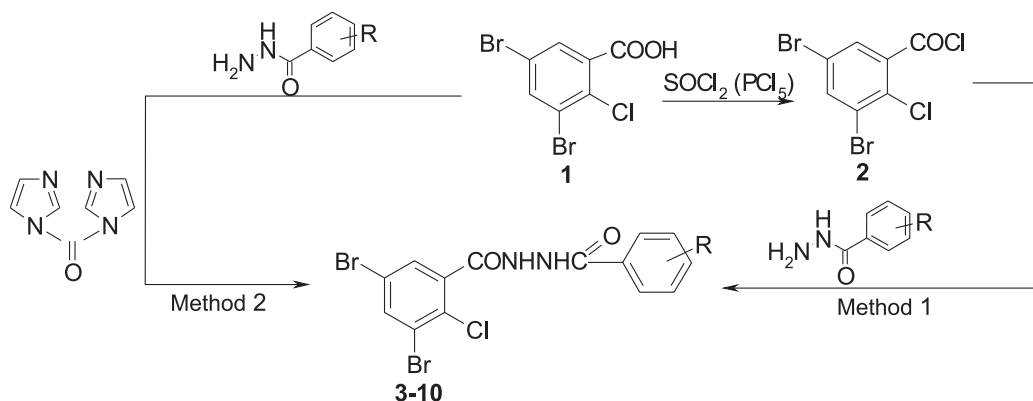
Method 1. To 1 g (0.01 Mol) of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid (**1**) add 5 ml of thionyl chloride and heat for 3-4 h. Remove the excess of thionyl chloride by vacuum distillation. Use the precipitate of acid chloride (**2**) formed in further synthesis without additional purification.

To the solution of 0.01 Mol of the corresponding hydrazide and 0.3 ml of pyridine in freshly distilled dioxane add 1.22 g (0.01 Mol) acid chloride of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid (**2**) when cooling, and heat at the temperature of 80 °C for 2 h. Dilute the reaction mixture with water; filter the precipitate formed and dry. Crystallize from aqueous ethanol.

Method 2. To 1 g (0.01 Mol) of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid (**1**) in freshly distilled dioxane add 0.52 g (0.2 Mol) of carbonyldiimidazole and mix until emission of CO_2 bubbles stops. In 45 min add 0.1 Mol of the corresponding hydrazide to the resulting transparent solution and boil for 2 h. After cooling dilute the reaction mixture with water; filter the precipitate formed, and dry. Crystallize from aqueous ethanol.

Results and discussion

The synthesis of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid hydrazides (**3-10**) was performed by two methods, namely – by hydrazinolysis of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid chloride (**2**) (method 1) and by interaction of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid (**1**) with hydrazines in the presence of the activator of the carboxyl group of carbonyldiimidazole (method 2) (Scheme).



Scheme

Table 1

Characteristics of hydrazides of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acids (3-10)

Compound	R	Yield*, %	M. p.	Found, %			Empirical formula	Calculated, %			R _f **
				C	N	H		C	N	H	
3	H	67/71	215-217	38.90	6.60	2.11	C ₁₄ H ₉ Br ₂ ClN ₂ O ₂	38.88	6.48	2.10	0.29
4	4-CH ₃	71/78	225-227	40.34	6.29	2.49	C ₁₅ H ₁₁ Br ₂ ClN ₂ O ₂	40.35	5.27	2.48	0.34
5	4-OCH ₃	58/64	241-243	38.94	6.05	2.41	C ₁₅ H ₁₁ Br ₂ ClN ₂ O ₃	38.95	6.06	2.40	0.38
6	4-C ₂ H ₅	60/65	251-253	41.72	6.09	2.83	C ₁₆ H ₁₃ Br ₂ ClN ₂ O ₃	41.73	6.08	2.85	0.26
7	4-OC ₂ H ₅	55/59	239-241	40.35	5.89	2.77	C ₁₆ H ₁₃ Br ₂ ClN ₂ O ₃	40.33	5.88	2.75	0.30
8	4-Cl	56/63	221-223	36.03	5.98	1.75	C ₁₄ H ₈ Br ₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	36.01	6.00	2.73	0.35
9	4-Br	62/65	243-245	32.89	5.49	1.57	C ₁₄ H ₈ Br ₃ ClN ₂ O ₂	32.88	5.48	1.58	0.36
10		65/70	237-239	36.01	9.97	1.87	C ₁₃ H ₈ Br ₂ ClN ₃ O ₂	36.02	6.69	1.86	0.38

Notes: * – Numerator – yield by method 1, denominator – yield by method 2; ** – The R_f values are given in the acetone-hexane system (1 : 1.5)

Method 2 is more practical and allows obtaining the target compounds with a high yield (Tab. 1).

Hydrazides of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid (3-10) obtained are white crystalline substances, rea-

dily soluble in ethanol, dioxane, DMF, almost insoluble in water.

The structure of the compounds (3-10) synthesized was confirmed by the data of elemental analysis, IR-

Table 2

The spectral characteristics of hydrazides of 2-chloro-3,5-dibromo-benzoic acids (3-10)

Compound	Absorption frequency, cm ⁻¹							Chemical shifts, ppm	
	ν _{NH}	ν _{C=O} ^{I amide}	δ _{NH} ^{II amide}	ν _{C≡C}	ν _{CN}	ν _{C-Cl}	ν _{C-Br}	CONH	CONHNH ₂
3	3366 3233	1696	1583	1596	1299	812	658	8.95	3.75
4	3345 3263 3245	1690 1652	1583	1607	1308	812	660	8.75	3.82
5	3419 3334 3303 3230	1691 1646	1583	1617	–	812 788	598	9.25	4.25
6	3232 (wide)	1691 1652	1583	1600	1308	812	507	8.82	4.32
7	3242 (wide)	1690 1654	1585	1600	1312	810	510	8.92	3.92
8	3240 (wide)	1689 1649	1576	1596	1310	812	507	8.74	4.32
9	3330 (wide)	1695 1653	1580	1610	1315	807	600	9.35	4.42
10	3350		1575	1607	1305	817	510	9.45	3.95

and PMR-spectroscopy, and individuality was proven by the method of thin layer chromatography (Tab. 1, 2).

In the IR-spectra of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid hydrazides (**3-10**) the characteristic presence of two bands with the widened contour in the region of 3292-3204 cm^{-1} confirms the NH-NH group, while the bands at 810 cm^{-1} and 640 cm^{-1} indicate the presence of the covalent-bonded halogens in the molecule ($\nu_{\text{C-Cl}}$ and $\nu_{\text{C-Br}}$). The band of stretching vibrations of the carbonyl group in the spectrum was interpreted in the area of 1630 cm^{-1} .

In the $^1\text{H-NMR}$ spectra of 2-chloro-3,5-dibromobenzoic acid hydrazides the signals of protons of the aro-

matic system at 7.70-7.32 ppm, as well as the signals of the protons of the hydrazide group at 8.77-9.55 ppm (CONH) and at 3.75-4.45 ppm (CONHNH_2) were detected.

According to the literature data [7-10] all compounds can exhibit a high antitubercular activity taking into account their chemical structure.

CONCLUSIONS

1. A series of new hydrazides of 3,5-dibromo-2-chlorobenzoic acid has been synthesized.

2. The compounds synthesized are promising for the pharmacological screening on the antitubercular activity.

Conflict of Interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Посилення контролю за туберкульозом в Україні / U. S. Agency for International Development (USAID). – Режим доступу : [www/ URL: http://stbcu.com.ua](http://stbcu.com.ua)
2. World Health Organization / Сайт ВООЗ. – Режим доступу : [www/ URL: http://www.who.int/en/](http://www.who.int/en/)
3. U. S. Food and Drug Administration (FDA) / U. S. Department of Health and Human Services. – Available at : [www/ URL: https://www.fda.gov](http://www.fda.gov)
4. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : справочник / М. Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Новая волна, 2005. – 1200 с.
5. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : новое пособие для врачей / М. Д. Машковский. – М. : Новая Волна, 2008. – 748 с.
6. Дроговоз, С. М. Фармакология–Cito : учебник / С. М. Дроговоз. – Х.: СИМ, 2010. – С. 87–89.
7. Synthesis, structural studies and antituberculosis evaluation of new hydrazone derivatives of quinoline and their Zn(II) complexes / Mustafa Mandewale, Bapu Thorat, Y. Nivid et al. // J. of Saudi Chemical Society. – 2016. – Vol. 3. – P. 234–236. doi: 10.1016/j.jscs.2016.04.003
8. Synthesis and antituberculosis activity of indole–pyridine derived hydrazides, hydrazide–hydrazones, and thiosemicarbazones / V. Velezheva et al. // Bioorg. & Med. Chem. Lett. – 2016. – Vol. 26, Issue 3. – P. 978–985. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.12.049
9. Transition metal complexes of 2–(2–(1H–benzo[d]imidazol–2–yl)hydrazono)propan–1–ol : Synthesis, characterization, crystal structures and anti–tuberculosis assay with docking studies / Vinayak Kamat et al. // Polyhedron. – 2017. – Vol. 127. – P. 225–237. doi: 10.1016/j.poly.2017.02.010
10. Structure activity relationships of 4–hydroxy–2–pyridones: A novel class of antituberculosis agents / P. S. Ng et al. // Eur. J. of Med. Chem. – 2015. – Vol. 106. – P. 144–156. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.10.008

REFERENCES

1. U. S. Agency for International Development (USAID). Available at: [www/ URL: http://stbcu.com.ua](http://stbcu.com.ua)
2. World Health Organization. Available at: [www/ URL: http://www.who.int/en/](http://www.who.int/en/)
3. U.S. Food and Drug Administration (FDA). U. S. Department of Health and Human Services. Available at: [www/ URL: https://www.fda.gov](http://www.fda.gov)
4. Mashkovskii, M. D. (2005). *Lekarstvennye sredstva, 15 izd.* Moscow: Novaia Volna, 1200.
5. Mashkovskii, M. D. (2008). *Lekarstvennye sredstva.* Moscow: Novaia Volna, 748.
6. Drogovoz, S. M. (2010). *Farmakologiya–Cito.* Kharkov: SIM, 87–89.
7. Mandewale, M. C., Thorat, B., Nivid, Y., Jadhav, R., Nagarsekar, A., Yamgar, R. (2016). Synthesis, structural studies and antituberculosis evaluation of new hydrazone derivatives of quinoline and their Zn(II) complexes. *Journal of Saudi Chemical Society*, 3, 234–236. doi: 10.1016/j.jscs.2016.04.003
8. Velezheva, V., Brennan, P., Ivanov, P., Kornienko, A., Lyubimov, S., Kazarian, K., Apt, A. (2016). Synthesis and antituberculosis activity of indole–pyridine derived hydrazides, hydrazide–hydrazones, and thiosemicarbazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26 (3), 978–985. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.12.049
9. Kamat, V., Kokare, D., Naik, K., Kotian, A., Naveen, S., Dixit, S. R., Revankar, V. K. (2017). Transition metal complexes of 2–(2–(1H–benzo[d]imidazol–2–yl)hydrazono)propan–1–ol: Synthesis, characterization, crystal structures and anti–tuberculosis assay with docking studies. *Polyhedron*, 127, 225–237. doi: 10.1016/j.poly.2017.02.010
10. Ng, P. S., Manjunatha, U. H., Rao, S. P. S., Camacho, L. R., Ma, N. L., Herve, M., Kondreddi, R. R. (2015). Structure activity relationships of 4–hydroxy–2–pyridones: A novel class of antituberculosis agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 106, 144–156. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.10.008

Information about authors:

Алферова Д. О., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), teaching assistant of the Department of Nutriciology and Pharmaceutical Bromatology, National University of Pharmacy. E-mail: diana-alexs@rambler.ru

Gritsenko I. S., Doctor of Chemistry (Dr. habil.), professor, head of the Analytical Chemistry Department, National University of Pharmacy

Rebrik A. O., student, National University of Pharmacy

Kobzar N. P., Candidate of Pharmacy (Ph. D.), associate professor of the Department of Medicinal Chemistry, National University of Pharmacy

Altukhov O. O., Candidate of Pharmacy (Ph. D.), associate professor of the Analytical Chemistry Department, National University of Pharmacy

Shapovalova O. V., Candidate of Pharmacy (Ph. D.), associate professor of the Biotechnology Department, National University of Pharmacy

Kalyuzhna O. S., Candidate of Pharmacy (Ph. D.), associate professor of the Biotechnology Department, National University of Pharmacy

Suleiman M. M., Candidate of Pharmacy (Ph. D.), teaching assistant of the Department of Medicinal Chemistry, National University of Pharmacy

Відомості про авторів:

Алферова Д. О., канд. фарм. наук, асистент кафедри нутриціології і фармацевтичної броматології, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: diana-alexs@rambler.ru

Гриценко І. С., д-р хім. наук, професор, завідувач кафедри аналітичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Ребрик А. О., студент, Національний фармацевтичний університет

Кобзар Н. П., канд. фарм. наук, доцент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Алтухов О. О., канд. фарм. наук, доцент кафедри аналітичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Шаповалова О. В., канд. фарм. наук, доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет

Калюжная О. С., канд. фарм. наук, доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет

Сулейман М. М., канд. фарм. наук, асистент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Сведения об авторах:

Алферова Д. А., канд. фарм. наук, ассистент кафедры нутрициологии и фармацевтической броматологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: diana-alexs@rambler.ru

Гриценко И. С., д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии, Национальный фармацевтический университет

Ребрик А. А., студент, Национальный фармацевтический университет

Кобзарь Н. П., канд. фарм. наук, доцент кафедры медицинской химии, Национальный фармацевтический университет

Алтухов А. А., канд. фарм. наук, доцент кафедры аналитической химии, Национальный фармацевтический университет

Шаповалова О. В., канд. фарм. наук, доцент кафедры биотехнологии, Национальный фармацевтический университет

Калюжная О. С., канд. фарм. наук, доцент кафедры биотехнологии, Национальный фармацевтический университет

Сулейман М. М., канд. фарм. наук, ассистент кафедры медицинской химии, Национальный фармацевтический университет

Надійшла до редакції 22.02.2017 р.